

Die Plasmaspiegel von Cholesterin und Phosphatiden
bei cholesteringefütterten Kaninchen und ihr Einfluß
auf die Ausbildung von Gefäßatheromen

Theodore Chun

1961

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
Vorstand: Professor Dr. W. SEITZ

DIE PLASMASPIEGEL VON CHOLESTERIN
UND PHOSPHATIDEN BEI
CHOLESTERINGEFÜTTERTEN KANINCHEN
UND IHR EINFLUSS AUF DIE
AUSBILDUNG VON GEFÄSSATHEROMEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Theodore Chun
aus
Honolulu/Hawaii

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. N. ZÖLLNER

Correferent: Professor Dr. W. SEITZ

Dekan: Professor Dr. W. SEITZ

Tag der mündlichen Prüfung: 24.10.1961



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	1
Frühere Versuche	2
Lipoidtransport	2
Lipoidverteilung im Plasma	4
Wirkung des Heparins	6
Material	8
Methoden	8
Resultate (Tabellen, Kurven und Abbildungen)	13
Diskussion und Zusammenfassung	26
Bibliographie	29
Lebenslauf	32



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555220_0067

Einleitung

BRÜCKEL und Mitarbeiter (1) schreiben "Arteriopathien und Krebskrankheiten sind die häufigsten Todesursachen in der westlichen Welt."

Es wurde versucht, einige der Fragen um das Problem der Gefäßkrankheiten und ihrer möglichen Ursachen zu klären. Hierfür wurden an 15 Kaninchen Versuche durchgeführt. Allerdings sind zahlreiche Experimente zur Frage der Gefäßkrankheiten schon gemacht worden, sie waren mannigfaltig und die Vollständigkeit der Ergebnisse wurde aus diesen vielen Versuchen zusammengestellt. In dieser Arbeit wird versucht, diese Ergebnisse miteinander zu vergleichen und zu zeigen, ob die eigenen damit übereinstimmen oder nicht.

Frühere Versuche

SETÄLÄ und Mitarbeitern (2) gelang es, durch Gabe von Histamin und einem Lipoid (Cholesterin, Olivenöl, usw.) eine Anhäufung von Lipoiden in der Aortenwand von Mäusen herbeizuführen. Seine Befunde und die von BENACERRAF (3) zeigen, daß anscheinend ein hoher Histaminspiegel notwendig ist, um die Ansammlung in der Aortenwand, bei gleichzeitig bestehendem hohen Spiegel der anzuhaufenden Substanz (Lipoid oder kolloidaler Kohlenstoff) herbeizuführen. Bei normalen Blutlipoidwerten und einem hohen Histaminspiegel wurde keine Ansammlung gefunden. Bei hohen Lipoidwerten und normalen Histaminwerten fand man auch keinerlei Ablagerung. Es waren also nach SETÄLÄ zwei Dinge nötig, um eine Ablagerung stattfinden zu lassen:

1. ein hoher Histaminspiegel, d.h. höher als normal,
2. ein hoher Lipoidspiegel.

Auch durch andere Versuche gelang es, eine Ablagerung von Lipoiden in der Aortenwand zu erreichen. WANG (4), ANITSCHKOW (5) etc. kamen bei Verabreichung einer hohen Cholesterindiät zu dem gleichen Ergebnis ohne Gabe von Histamin. Die Anwendung einer Diät mit hohen Cholesteringaben ohne Gabe von Histamin wurde auch in dieser Arbeit gemacht. Es fand sich eine erhebliche Ablagerung von Lipoiden in der Aortenwand. Die Serumlipide wurden analysiert, um Veränderungen ihrer Konzentrationen festzustellen.

Lipoidtransport

Wie und durch welche Substanz oder Substanzen werden die Lipide von ihrer Quelle, sei es einem Organ, sei es direkt nach der Resorption von Fett aus dem Verdauungstrakt, transportiert? Nach FREDRICKSON und GORDON (6) stellt die nötige Versorgung tätiger Gewebezellen mit oxydierbaren Fettsäuren die größte Anforderung an den Transportmechanismus der Fettsäuren (FS). Welches sind die Hauptester der Fettsäuren? Es zeigt sich, daß 90 % der im Plasma vorkommenden Fettsäuren Ester des Glycerins oder des Cholesterins sind. Da Cholesterin einen großen Anteil der Ester der Fettsäuren ausmacht, kann man annehmen, daß es eine wichtige

Rolle im Oxydationsprozeß der Gewebezelle spielen kann. Die freien Fettsäuren (FFS) in der extracellulären Flüssigkeit sind an Albumin-Lipoproteine (high density (H.D.)) gebunden, 1 % an Erythrocyten, 0,5 % an L.D. Lipoproteine und 0,01 % sind ungebunden. Das H.D. Lipoprotein ist das wichtigste, denn es ist der Hauptträger fast aller Lipide, die im Nüchternblut vorhanden sind.

An dieser Stelle müssen die Chylomikronen als Lipoidträger besprochen werden. Die Chylomikronen sind Neutralfetttröpfchen mit unterschiedlichen Mengen an Lipiden; sie sind die vorherrschende Transportform der aus dem Verdauungstrakt kommenden Neutralfette (7). Cholesterin wird schnell vom Plasma an rote Blutkörperchen und von Chylomikronen an H.D. Lipoproteine ausgetauscht. Dieser Austauschprozeß findet auch zwischen H.D. Lipoproteinen und L.D. Lipoproteinen statt.

Woher stammen die freien Fettsäuren? Ein kleiner Teil kommt aus dem Magen-DarmTrakt, dies sind die kurzkettigen Fettsäuren. Ein anderer Teil entsteht bei der Hydrolyse der Plasmalipide nach Fettabsorption. Die wichtigste Quelle aber ist das Fettgewebe. Freie Fettsäuren werden auf zweierlei Arten in die Blutbahn hinein und wieder aus ihr heraushtransportiert. Bei der einen werden sie bei ihrem Transport ins Gewebe hinein von ihrem Trägerprotein getrennt. Die andere ist das Wegschaffen durch Zellen, die mindestens eine so starke Affinität FFS zu binden haben wie Albumin. Auf diese Weise wird die FFS von ihrem Albuminträger getrennt und wandert in das Endothelium, wo sie an extravasculäres Albumin gebunden und von den Parenchymzellen fortgeschafft wird. Der wichtigste Punkt ist der, daß sie von ihrem Trägerprotein getrennt werden, wenn sie in das Endothel wandern. Die freien Fettsäuren sind eine wichtige Energiequelle, und bei ihrem Transport in die Zelle, lassen sie also, wie man sieht, ein "Überbleibsel" hinter sich. Ein Teil dieses "Überbleibsel" ist Cholesterin und könnte für die Anhäufung in der Intima verantwortlich sein. Durch die Blockade des Aufbaus von RNS in vivo, kann man auch den Aufbau von extravasculärem Protein blockieren. Die Blockade dieser beiden wichtigen Trägersubstanzen in der Kette des FFS-Stoffwechsels könnte von großer Wichtigkeit sein.

Hier wenden wir uns wieder den Chylomikronen zu, die stabile Emulsionen von Triglyceriden langkettiger Fettsäuren sind. Gewöhnlich werden sie schnell aus dem Blut fortgeschafft. Wenn jedoch eine besondere Substanz, wie zum Beispiel Protamin anwesend ist, so ist dieses Verschwinden verzögert (6). Wenn dies so ist, sollte man erwarten, im Blut heparinisierter und nichthe-parinisierter cholesteringefütterter Kaninchen gleich hohe Cholesterinwerte

zu finden, aber unterschiedliche Anhäufungen von Cholesterin in der Aortenwand. Diese Hypothese könnte durch das Vorhandensein von mehr Chylomikronen in den heparinisierten Tieren erklärt werden, die den Abbau von Cholesterin durch die Leber begünstigen würden (9). Es besteht auch die Möglichkeit, daß die Chylomikronen durch Phagocytose größerer Teilchen verschwinden und dann durch Diffusion durch die Kapillarwand oder durch Poren direkt in das Gewebe hineingelangen. Auf diese Weise kann ein Teil der Protein"membran", die einen hohen Fettgehalt hat, in der Kapillarwand zurückbleiben und der Grund für die Anhäufung in der Kapillarwand sein.

Die Cholesterinester spielen keine wichtige aktive Rolle im Fettsäuretransport von Gewebe zu Gewebe, aber ihr Vorhandensein ist nötig, damit Fettsäuren transportiert werden können (6). Ebenso spielen die Plasmalipide keine Rolle im Fettsäuretransport, doch kann es sein, daß ihnen eine mobilisierende Funktion innerhalb des Gewebes zukommt.

Lipoidverteilung im Plasma

"Es besteht immer eine lineare Beziehung zwischen den Log. der Konzentration von Phosphorlipiden und freiem Cholesterin, auf Grund derer Veränderungen in der Konzentration beider Substanzen oder Veränderungen im Verhältnis zw. freiem und Estercholesterin zwangsläufig zu Änderungen des C/P Quotienten führen." (10).

Normalerweise ist das Verhältnis von Cholesterin zu Lipoidphosphor konstanter als die Konzentrationen jedes dieser Lipoidanteile. Dieses Verhältnis ist 21,4 S.D., mit einer Abweichung von $\pm 2,48$ (11). Es steigt bei hohen Cholesterinwerten an (12).

Nach WILKENSON (13) soll der Quotient von Phosphorlipiden zu Gesamtcholesterin (PL/GC) in cholesteringefütterten Tieren kleiner als in normalen sein. Wenn wir 1 als normal ansehen, dann müßten die Cholesterintiere einen Phosphorlipoid-Gesamtcholesterin-Quotienten kleiner als 1 haben. Es besteht eine deutliche Beziehung zwischen freiem Cholesterin und Phosphorlipiden unabhängig vom Krankheitsprozeß, aber nicht zwischen Gesamtcholesterin und Phosphorlipiden. Der Quotient von Phosphorlipoid zu Gesamtcholesterin fällt mit steigendem Cholesterin, doch nicht unter den Wert von 0,5. Diesen Wert kann man als Toleranzminimum des Körpers ansehen. Den Quotienten Phosphorlipoid zu Gesamtcholesterin sollte

man für wissenschaftliche Überlegungen nicht heranziehen, denn Gesamtcholesterin ist keine einheitliche Substanz (13). Es setzt sich aus freiem Cholesterin und Estercholesterin zusammen. Es ist z.B. möglich, daß das freie Cholesterin absinkt, ohne daß sich der Wert für Gesamtcholesterin verändert (14). Bei Krankheiten, die die Folge arterioskleratischer Prozesse sind oder solchen, die zu dieser Gefäßkrankheit führen, fand man Phosphorlipoid-freies Cholesterin-Quotienten, die niedriger lagen als normal. Es muß aber gesagt werden, daß die Arteriosklerose nicht der entscheidende Faktor für den Abfall des Quotienten Phosphorlipoid/freies Cholesterin ist. Bei der familiären Hypercholesterinämie findet man keine Arteriosklerose, obgleich das Cholesterin erhöht und das Verhältnis von Phosphorlipoid zu freiem Cholesterin erniedrigt ist. Der erniedrigte Phosphorlipoid/freies Cholesterin Quotient gibt nur an, daß eine erhöhte Menge an Cholesterin im Blut zirkuliert (13).

WILKENS (13) stellt fest, daß bei logarithmischer Auftragung die Beziehung zwischen Phosphorlipoid und freiem Cholesterin eine Gerade ergibt. Nach WILKENS ist die Abweichung von dieser Geraden kleiner als 5 % auch bei Krankheiten, die zu Arteriosklerose führen oder ihre Folgeerscheinungen sind.

Obgleich auch die Phosphorlipide im Serum gleichzeitig mit dem Cholesterin ansteigen, so ist ihr Anstieg doch langsam. Normalerweise ist der Phosphorlipoidspiegel höher als der Spiegel für Gesamtcholesterin. Die Werte der Beziehung Gesamtcholesterin/Phosphorlipide liegen bei 0,8 - 1,0 (1). In pathologischen Fällen war der Cholesterinwert oftmals höher als der für Phosphorlipide. Es wird angegeben, daß Erhöhung dieses "lipolytischen Quotienten" über 1, für die Pathogenese einer Arteriosklerosis spricht. Mit der relativen Erniedrigung der Phosphorlipide, die hydrophil sind, wird die Löslichkeit des hydrophoben Cholesterins herabgesetzt. Dies kann zu gröberer Dispersion, zu Serumtrübung, und schließlich zu steigender Cholesterinanhäufung in der Aortenwand führen (1).

Auch ADLERSBERG und Mitarbeiter (17) geben an, daß der Phosphorlipoidanstieg nicht so hoch ist wie der des Cholesterins. Sie nehmen an, daß es ein Zeichen dafür ist, daß Mobilisierung und Aufbau der Phosphorlipide nicht in der Lage sind, mit dem massiven Einstrom des Cholesterins Schritt zu halten.

BANG (33), BLOOR (34), SCHAEFFER (15) und andere stimmen darüber überein, daß Fettsäuren und Cholesterin während der Resorption von Fett ansteigen.

Die Neutralfette aber zeigten sehr unterschiedliche Konzentrationen und keine feste Abhängigkeit von der Höhe der Phosphorlipide. Auch fand man, daß sie, den Anstieg betreffend, weit hinter dem Cholesterin zurückblieben. Die Werte für Neutralfette liegen bei Normalpersonen niedriger als bei Arteriosklerotikern. Man kann zwar diese leichte Erhöhung der Neutralfette bei Sklerose finden, doch ist dies nicht immer der Fall. Bei Erhöhung der Neutralfette im Serum findet sich immer eine deutliche Trübung desselben. Normalerweise ist das Serum klar oder ganz leicht trüb (18, 19).

Eine biologische Konstante ist die Beziehung zwischen freiem Cholesterin und Cholesterinestern (12). BLOOR und KNUDSON (35) fanden 60 % Ester, BOYD (36) 70 %, SPERRY (37) 73 % und ADLERSBERG (17) 75 %. PETERS fand einen Quotienten für freies Cholesterin zu Gesamtcholesterin von 0,28. Er fand auch, daß bei Gesunden der Quotient Lipoidphosphor zu Gesamtcholesterin zwischen 0,020 und 0,038 liegt und der für freies Cholesterin zu Gesamtcholesterin zwischen 0,24 und 0,32. In krankhaften Fällen ist der Quotient Lipoidphosphor zu Cholesterin höher als normal zusammen mit einem normalen oder erhöhten Quotienten für freies Cholesterin zu Gesamtcholesterin, oder der Quotient freies Cholesterin zu Gesamtcholesterin ist höher als die Norm, der Quotient Lipoidphosphor zu Cholesterin aber normal.

Störung des Fettstoffwechsels und Erhöhung der Serumlipide schaffen die Voraussetzung für eine Atherosklerose. Es gibt praktisch keinen Beweis, daß nur ein Lipoidanteil erhöht ist, sondern es sind alle Lipide beteiligt (20). Ein gutes Gleichgewicht zwischen den Lipiden ist wichtiger als die absolute Konzentration eines oder aller Lipoidanteile (11).

Wirkung des Heparins

Heparin kann das Verschwinden der alimentären Lipämie beeinflussen (21). Wie ist dies möglich? Eine Erklärung ist die Annahme, daß ein inaktiver "Klärfaktor" im Gewebe vorhanden ist und zwar vor allen Dingen im Herz und Lungengewebe. Bei Gabe von Heparin wird der inaktive "Klärfaktor" zu einer aktiven Form, einer Lipoproteinlipase aktiviert. In Gegenwart eines Akzeptorproteins reagiert diese Lipase mit dem Substrat und baut einen Komplex aus Fettsäuren und Protein (22). Jedoch scheint dies den Serumcholesterinspiegel nicht zu beeinflussen. Es konnte gezeigt werden, daß nur nach sehr langer Heparintherapie ein Absinken des Cholesterinspiegels zu beobachten war (1). Für das Unvermögen des Körpers mit der

steigenden Trübung (Lipämie) fertig zu werden, nimmt man folgende Gründe an:

1. ungenügende endogene Heparinproduktion (23)
2. Zunahme eines Hemmstoffes des "Klärfaktors" (24)
3. Insuffizienz des Akzeptorproteins (25).

Andere mögliche Erklärungen für das Wirken des Heparins wurden weiter oben schon erwähnt. In dieser Arbeit wurde Heparin angewandt, um folgende Fragen zu untersuchen:

1. Senkt Heparin den Cholesterinspiegel
2. Bewirkt Heparin eine Klärung des Serums
3. Beeinflußt Heparin die Anhäufung von Cholesterin in der Aortenwand im Sinne einer geringeren Anhäufung
4. Hat Heparin irgend einen Einfluß auf andere Lipoide.

Material

Für diese Arbeit wurden 15 Kaninchen von ungefähr gleichem Alter und Gewicht genommen. Im Mittel betrug das Gewicht 3 kg. Alle Tiere, außer einem, waren normale, junge, männliche Kaninchen von möglichst gleicher Farbe, da Unterschiede der Farbe möglicherweise die Versuchsergebnisse beeinflussen können. Die 15 Kaninchen wurden in Gruppen zu sechs, sechs und drei Tieren aufgeteilt. Der ersten Gruppe wurde Cholesterin gefüttert und Heparin injiziert. Die zweite Gruppe erhielt nur Cholesterin. Die dritte Gruppe, nur aus drei Tieren bestehend, war die Kontrollgruppe und wurde normal gefüttert. Die Ernährung der Tiere bestand aus gequetschtem Hafer, Heu und Grünfutter. Die Fütterung begann am 29. Januar 1960 und dauerte bis zum 22. April, als die letzten drei Tiere getötet und deziert wurden. Die Tiere erhielten Ohrmarken mit den Nummern von 1 bis 15.

Methoden

Cholesterinfütterung: Die Tiere wurden in Einzelkäfigen aus Metall untergebracht. Jedes Tier (außer den Kontrolltieren) erhielt täglich 1 g Cholesterin. Damit die Kaninchen das Cholesterin fraßen, mußte es mit dem normalen Futter gemischt werden. Hierfür wurde 1 g Cholesterin zu etwa 50 g gequetschtem Hafer gegeben. Zusatz von Olivenöl ließ das Cholesterin besser am Hafer haften. Außerdem verbesserte Olivenöl die Resorption des Cholesterins im Verdauungstrakt (23). Anfangs wurde 1 ccm Olivenöl genommen, später stellte sich heraus, daß es zu wenig sei, weil der Hafer sehr trocken war. 1,5 bis 2 ccm Öl ließen das Cholesterin sehr viel besser am Hafer haften. Zur guten Verteilung des Cholesterins wurde der Hafer sehr gut durchmischt. Damit die Kaninchen ihre tägliche Menge von 1 g Cholesterin wirklich erhielten, wurde ihnen zusätzliches Futter, wie Grünzeug oder Brot erst gegeben, nachdem sie allen Hafer aufgefressen hatten.

Heparininjektion: Den Tieren der Gruppe 1 wurde täglich, außer Sonntag, Heparin injiziert. Jedes Tier erhielt subcutan 1 ccm Depotheparin (1,000 I.E. Liquemin (La Roche) + 0,52 mg Ephedrin-hyd.). Die Haut oben innen am Hinterbein wurde angehoben und in die entstehende Falte injiziert.

Blutproben: Am Ende jeder Woche wurde allen Tieren Blut aus der Ohrvene entnommen. Um eine bessere Füllung der Venen zu erreichen, wurde

das Ohr vorher mit Xylol abgerieben. Das Xylol erzeugte eine Hyperämie. Drei bis vier ccm Blut waren erforderlich, um genügend Serum für die folgenden Analysen zu erhalten. Das Blut wurde in nummerierten Gläsern gesammelt und das Serum abzentrifugiert. Die Geschwindigkeit betrug 3000 bis 3500 Umdrehung pro Minute. Das Serum wurde in ein anderes Glas gegossen und für spätere Analysen aufgehoben.

Sammeln des Faeces: Das Sammeln des Kotes geschah einmal wöchentlich in extra nummerierte Behälter. Die Menge wurde gewogen, in einer Kaffeemühle sehr fein gemahlen und nach sehr gutem Mischen 1 g für spätere Analysen abgenommen. Es sollte die normale Ausscheidung von Cholesterin bei normalen Tieren untersucht werden und die Absorption von Cholesterin durch den Verdauungstrakt bei cholesteringefütterten Tieren.

Blut- und Faecesanalysen: 1 g Faeces wurde in einen 100 ml Meßkolben gegeben und ein Aceton-Alkohol-Gemisch (1 : 1) hinzugefügt. Etwa die Hälfte des Kolbens wurde mit diesem Aceton-Alkohol-Gemisch gefüllt und dann bis eben unter den Siedepunkt (etwa 60 °) gebracht und eine halbe Stunde bei dieser Temperatur gehalten. Die Kolben wurden vom Wasserbad genommen und nach Abkühlen bis zur 100 ml Marke aufgefüllt, zugedekkt und über Nacht stehen gelassen. Nachdem die Füllung bis zur 100 ml Marke kontrolliert eventuell verdunstetes Lösungsmittel wieder aufgefüllt war, wurde der Inhalt filtriert. 1 ml des Filtrates wurde in ein Reagenzglas pipettiert und auf Cholesterin nach der Methode von ZAK (26, 27) untersucht. Alle Ansätze wurden im Duplikat gemacht. Die Ablesung des entstehenden Farbwertes erfolgte am Eppendorf Photometer, Filter 546. Drei Ansätze mit bekannten Cholesteringehalt, sogenannte Standardansätze, liefen durch alle Schritte des Versuches mit und wurden ebenfalls am Photometer abgelesen. Sie dienten zur Berechnung des Cholesteringehaltes in den Testansätzen. So wurde die Cholesterinmenge in dem im Ansatz enthaltenen 1 g Faeces errechnet, das Ergebnis mit dem Gewicht des Gesamtkotes multipliziert und damit die Menge des ausgeschiedenen Cholesterins erhalten. Das Schema dieser Berechnung für 1 ml Extrakt ist:

$$\frac{E}{S} \cdot 100 \cdot \frac{100}{1000} \text{ ml} \cdot \frac{\text{Faeces}}{\text{in g}} = \text{gesamtes ausgeschiedenes Cholesterin}$$

(E = Extinktion im Ansatz mit unbekannter Cholesterinmenge)

S = Extinktion der bekannten Cholesterinmenge (Standard)

100 = eingesetzte Cholesterinmenge bei S

100 ml = Gesamtmenge des Faecesextraktes).

Die Höhe des resorbierten Cholesterins errechnet sich aus der Gesamtmenge des an das Kaninchen verfütterten Cholesterins (7 g in der Woche) minus Gesamtausscheidung minus Normalausscheidung:

$$7 \text{ g} - (\text{Gesamtes ausgeschiedenes Cholesterin} - \text{normalerweise ausgeschiedenes Cholesterin}) = \text{Menge des resorbierten Cholesterins.}$$

Das Serum wurde auf Cholesterin, Phosphorlipide und veresterte Fettsäuren untersucht. Die Höhe des Neutralfetts wurde aus den Ergebnissen dieser drei Lipide errechnet.

Zuallererst wurde eine Trübungsmessung des Serums im Eppendorf Photometer (Filter 691) gegen destilliertes Wasser vorgenommen. Zur Extraktion der Lipide wurde 1 ml Serum nach SPERRY extrahiert (28).

Gesamtes und freies Cholesterin wurden bestimmt, Gesamtcholesterin wöchentlich, freies Cholesterin jede zweite Woche. Wie bei den Faecesanalysen wurde die Methode nach SPERRY angewandt (26, 27). Das Schema zur Berechnung des Serumcholesterins ist folgendes:

$$\frac{E}{S} \cdot 100 \text{ } \mathcal{Y} \cdot \text{untere Phase} \cdot \frac{25}{20} \cdot \frac{100}{1000} = \text{mg\% Cholesterin}$$

(E = Extinktion im Ansatz mit unbekannter Cholesterinmenge

S = Extinktion im Standardansatz

100 $\mathcal{Y}$ = eingesetzte Cholesterinmenge bei S

untere Phase = Menge der Chloroformphase in ml bei Auswaschung des Lipoidextraktes nach SPERRY

$\frac{25}{20}$ = Umrechnung der eingesetzten auf die ursprüngliche Extraktmenge

$\frac{100}{1000}$ = Umrechnung auf mg%).

Wie immer wurden die Bestimmungen im Duplikat vorgenommen.

Phosphorlipoidanalysen wurden nach BARTLETT (29) aus dem gleichen Extrakt durchgeführt. Die Phosphorlipide wurden indirekt bestimmt, d.h. der Gehalt des Serums an organischem Phosphor wird bestimmt und das Ergebnis mit dem Faktor 25 multipliziert.

Wöchentliche Analysen der Kot- und Serumwerte für Heparin-Cholesterintiere

	1. W.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
Kot Chol.	3840 mg	5050	6240	6014	5420	6560	4700	5600	5880			
Ges. Chol.	502 mg%	1124	1825	1796	2260	1680	1800	2040	2620	2620	5925	5925
Phosphorlip.	265 "	396	687	596	635	648	656	882	890	907		472
Neutralfett	479 "	298	15	300	153	336	19	-381	-670			
Veres. Fetts.	894 "		1442		1695		1332		1185			2045
Freies Chol.		239		420		580		492		984		
Kot Chol.	1810	3410	4260	3940	2330	4960	4140	2220	1355			
Ges. Chol.	408	1146	1725	1387	1655	1620	1546	2160	2260			
Phosphorlip.	213	321	470	502	514	597	692	1165	797			
Neutralfett	205	-67	-176	88	-32	55	139	-400	-148			
Veres. Fetts.	533		1065		1110		1356		1425			
Freies Chol.		198		412		475		552				
Kot Chol.	2560	2280	2370	3942	1444	1930	1830	1680				
Ges. Chol.	519	1204	1662	1228	1040	815	714	637				
Phosphorlip.	229	399		518	504	491	450	456				
Neutralfett	111				90	153	143					
Veres. Fetts.	501				902		770	176				
Freies Chol.		218		376		282						
Kot Chol.	3540	2620	3172	5500	5500	6200	6140	4680	4720		3420	
Ges. Chol.	420	759	1096	1192	1665	1545	1276	1600	1740	1725	1745	
Phosphorlip.	197	306	361	450	480	484	485	742	603	561	506	
Neutralfett	96	-71	-106	95	52	81	200	-198	-218	-147		
Veres. Fetts.	419		786		1260		1210	328	1110	412	1142	
Freies Chol.		72		272		331						
Kot Chol.	2160	3700	3625	3050	3200	5180	3620	4400	3410			
Ges. Chol.	302	750	780	1220	1563	1458	1450	804	1910	1840		
Phosphorlip.	182	362	427	575	543	494	627	651	812	781		
Neutralfett	147	197	574	397	317	610	741	939	158			
Veres. Fetts.	406		1237		1440		1920		1673	602		
Freies Chol.		184		392		374		165				
Kot Chol.	2170	3160	2785	2860	3630	3570	3815	3780	2430			
Ges. Chol.	379	702	1119	1083	1770	1620	1608	2120	2190			
Phosphorlip.	210	360	442	482	602	614	687	866	960			
Neutralfett	497	527	580	645	277	307	263	156				
Veres. Fetts.	810		1430		1560		1514		1970			
Freies Chol.		179		299		415		634				

Tabelle 1

Wöchentliche Analysen der Kot- und Serumwerte für Cholesterintiere

		1. W.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
Kot Chol. Ges. Chol. Phosphorlip. Neutralfett Veres. Fetts. Freies Chol.	7.	3470 mg 681 mg% 237 " 29 " 501 "	4660 954 294 -35 185	6222 2031 553 -577 877	5040 2040 795 -234 540	4300 2220 577 96 1655	4540 2800 706 -259 562	5050 1480 551 683 1850	4160 2320 1005 -129 501	2260 2540 971 -109 1707			
Kot Chol. Ges. Chol. Phosphorlip. Neutralfett Veres. Fetts. Freies Chol.	8.	3050 454 219 347 700	3115 1168 405 159 285	2490 2125 668 -130 1365	3550 1902 615 969 586	1332 2740 732 1375 3190	2600 2540 802 892 694	5530 2260 756 559 2190	4150 2180 928 503 568	4140 2450 907 506 2240			
Kot Chol. Ges. Chol. Phosphorlip. Neutralfett Veres. Fetts. Freies Chol.	9.	3840 562 311 294 756	3590 816 395 1223 255	4710 1020 345 461 1223	4430 1380 435 560 255	4980 11710 574 736 2022	7182 1272 554 704 376	5380 1135 525 446 1338	4400 1765 992 -90 521	2552 1784 855 167 1474	1910 782		
Kot Chol. Ges. Chol. Phosphorlip. Neutralfett Veres. Fetts. Freies Chol.	10.	3330 624 280 277 749	3610 1138 447 1 275	6270 2152 806 -603 1025	5300 2000 692 -41 546	4610 1850 530 552 1800	7900 1712 700 259 547	4470 1330 500 297 1232	5690 2140 1047 -685 710	4520 840 475 -150 441	1670 814	754	
Kot Chol. Ges. Chol. Phosphorlip. Neutralfett Veres. Fetts. Freies Chol.	12.	4320 435 196 107 437	4500 1124 401 -188 310	6240 1342 381 -164 832	6020 1565 551 -171 236	7660 2177 573 -19 1375	6080 2080 661 170 697	4790 1557 680 520 1735	5610 2240 875 125 530	4740 2680 952 -51 1874	2290 882	3610 2460 800 1734	3610 2370 814

Wöchentliche Analysen der Kot- und Serumwerte für Kontrolltiere

	1. W.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
Kot Chol.	1225 mg	1380	1560	1250	1615	1840	1450	1435	1500		1518	1518
Ges. Chol.	90 mg%	232	158	108	81	53	46	54	75	102		51
Phosphorlip.	171 "	229	236	181	139	122	86	131	126	84		114
Veres. Fetts.	439 "		433		310		190		356			190
Freies Chol.		45		40		36		37		16		
Kot Chol.	166	475		33	252	205	179	223				
Ges. Chol.	18	32	35	29	38	41	32	35	38	51		
Phosphorlip.	48	77	55	102	59	47	44	84	79	140		
Veres. Fetts.	72		41		95		77		144			
Freies Chol.		11		8		52		43		10		
Kot Chol.	1060	1092	1415	1380	1196	1648	1547		1085		1312	
Ges. Chol.	107	107	98	87	120	73	61	79	73	54	79	
Phosphorlip.	159	204	184	186	185	136	117	123	99	110	117	
Veres. Fetts.	332	25	253		388		288		450		400	
Freies Chol.				17		31		38		26		

Kot- und Serummittelwert

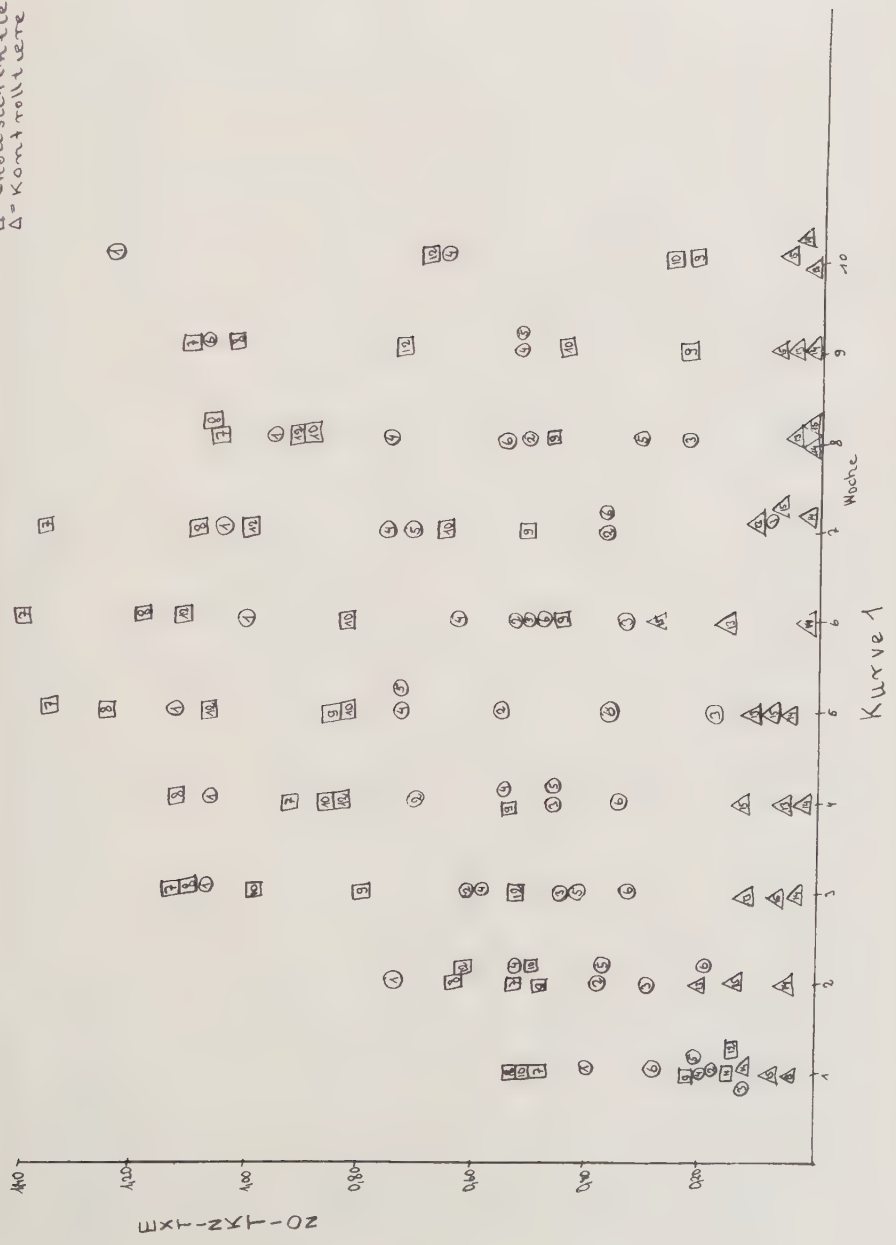
Kot Chol.	2680	3370	3742	4218	3587	4733	4040	3727	3559			
Ges. Chol.	422	947	1368	1318	1658	1456	1999	2922	2144	2061		
Phosphorlip.	216	357	477	520	546	554	599	793	812	749		
Neutralfett	256	177	177	305	372	257	251	23	-219			
Veres. Fetts.	594		1192		1327		1350		1460			
Freies Chol.		182		362		409		391		666		
Kot Chol.	3602	3895	5186	4868	4576	5660	5130	4800	3642			
Ges. Chol.	551	1040	1734	1777	2139	2080	1552	2129	2058	1956		
Phosphorlip.	248	386	550	619	597	689	702	989	832	826		
Neutralfett	214	66	-202	206	548	353	501	-55	72			
Veres. Fetts.	628		1064		2008		1669		1347			
Freies Chol.		263		432		575		566		888		
Kot Chol.	1142	1236	1487	1315	1425	1744	1498	1435	1298		1415	
Ges. Chol.	98	169	128	97	100	63	54	66	74	83		
Phosphorlip.	165	216	210	183	162	129	101	127	112	147		
Veres. Fetts.	385		343		349		239		403			
Freies Chol.		35		28		33		36		20		

Tabelle 3

Gruppe I = Heparin-Cholesterintiere
 Gruppe II = Cholesterintiere
 Gruppe III = Kontrolltiere

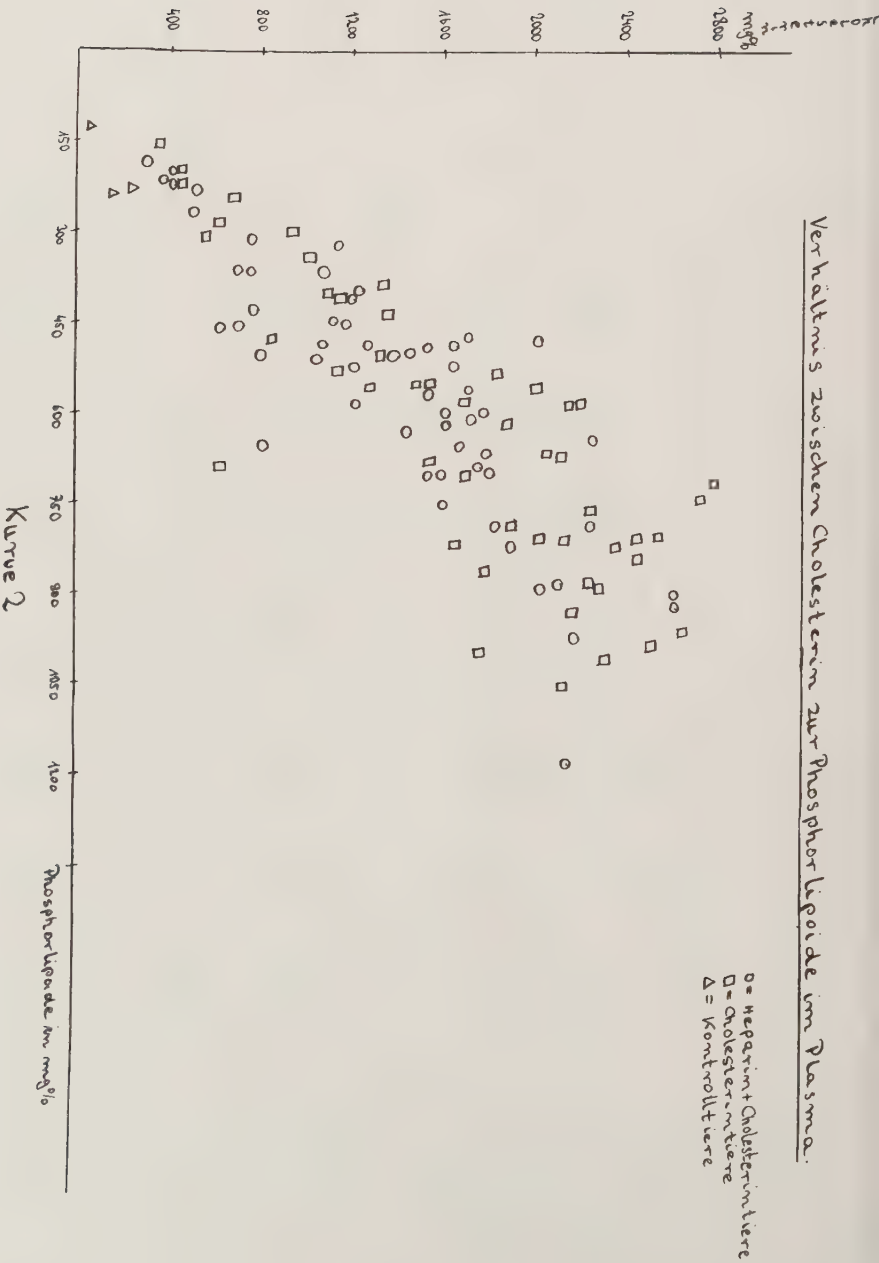
Serum Lipämie

○ = Heparin + Cholesterin
 □ = Cholesterin alleine
 △ = Kontrollserie



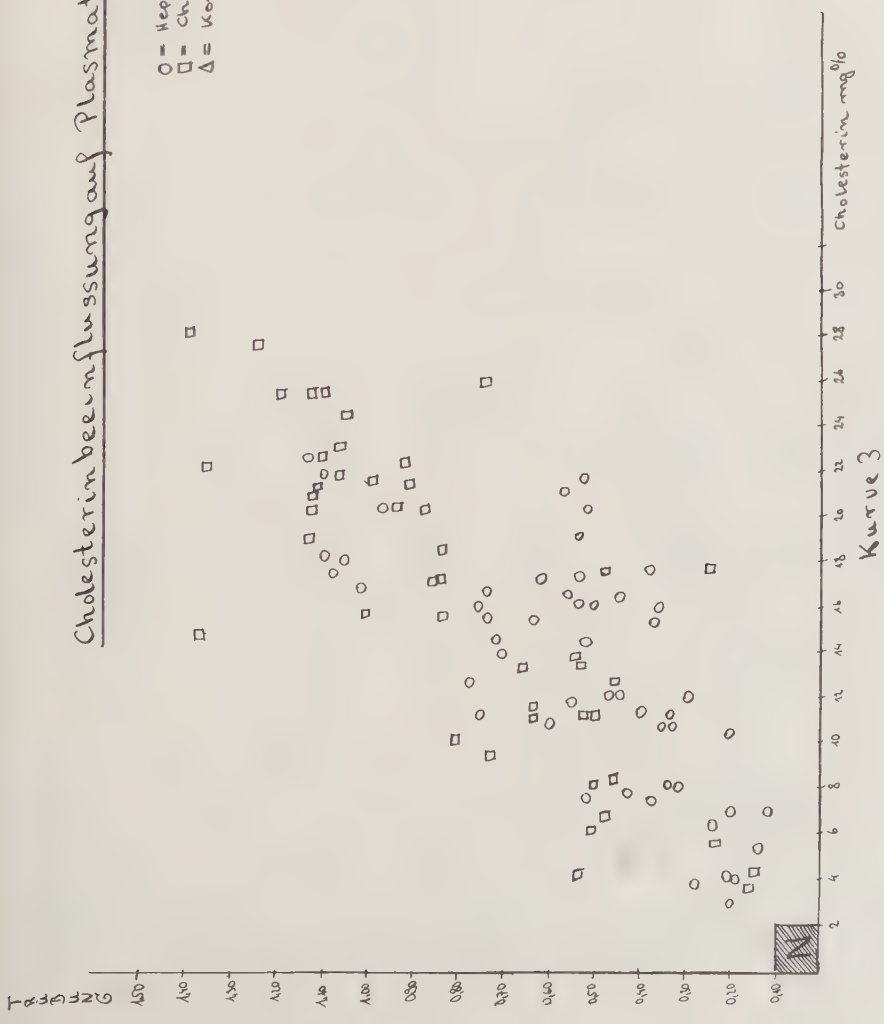
Kurve 1

Verhältnis zwischen Cholesterin zur Phosphorlipide im Plasma.



Cholesterinbeeinflussung auf Plasmatribung

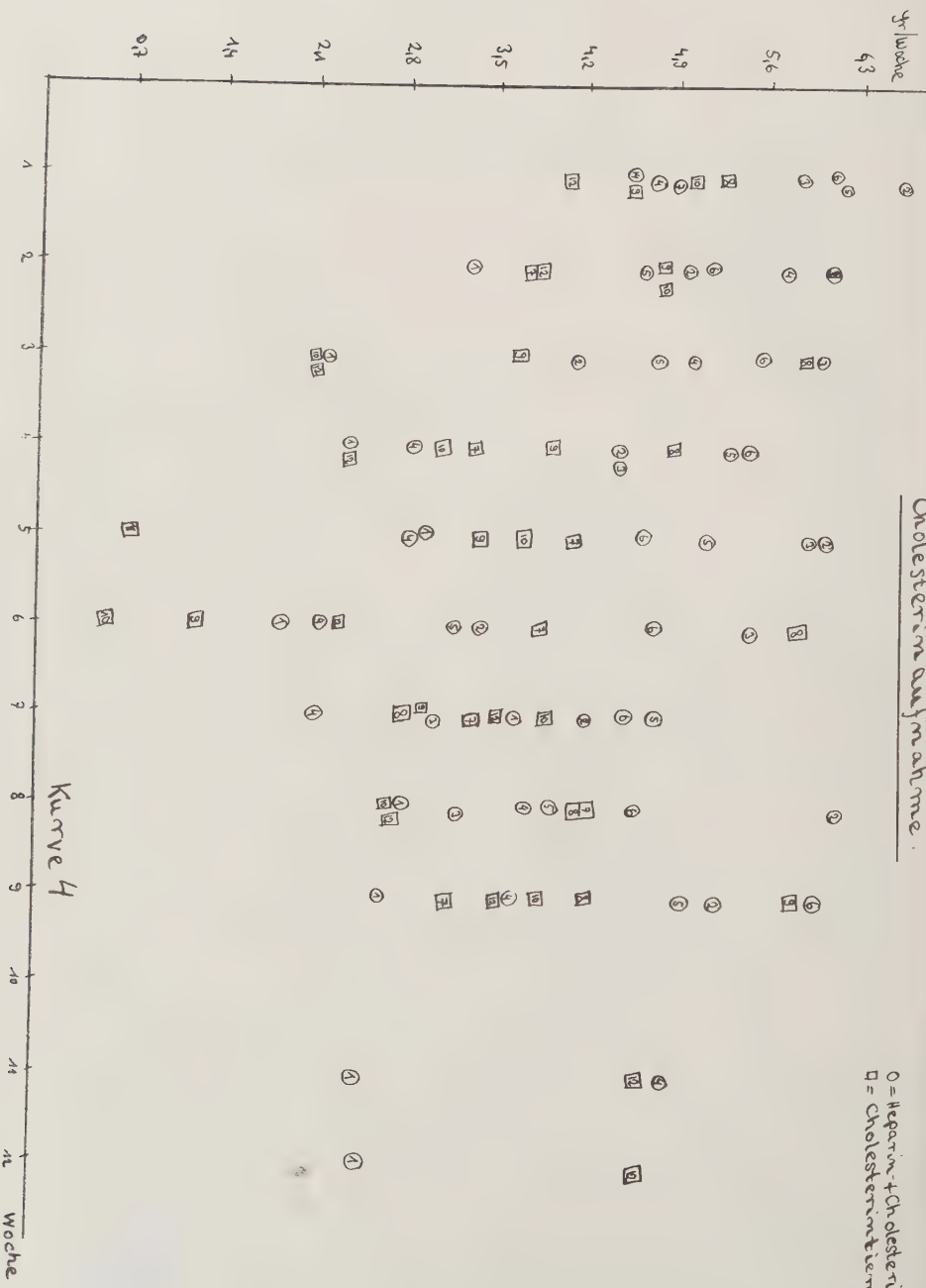
O = Heparin- + Cholesterintiere
□ = Cholesterintiere
Δ = Kontrolltiere = N



Cholesterinaufnahme.

0 = Heparin + Cholesterinitiere
 □ = Cholesterinitiere

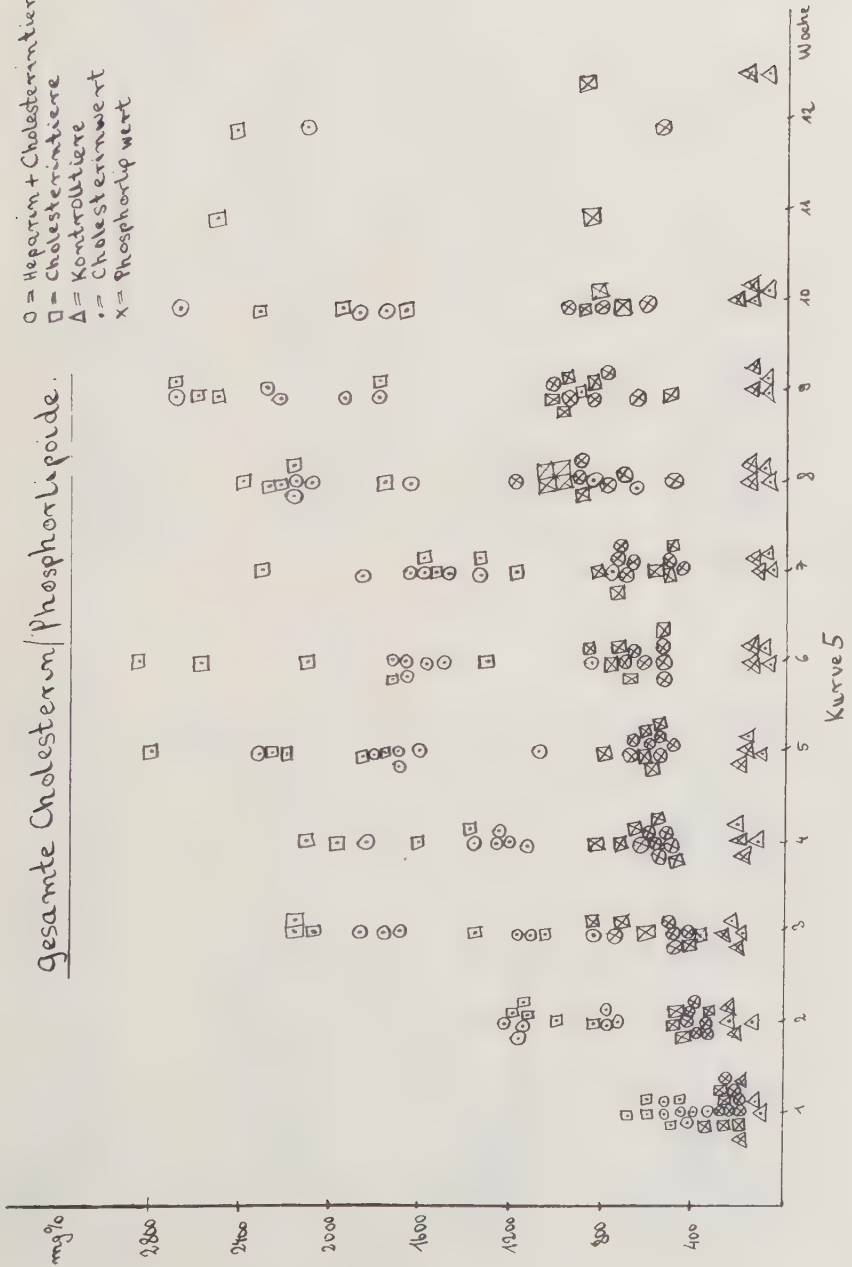
- 22 -



Kurve 4

gesamte Cholesterin/Phosphorlipide.

- = Heparin + Cholesterintiere
- = Cholesterintiere
- △ = Kontrolltiere
- = Cholesterinwert
- x = Phosphorlipid wert



Aorten von Versuchstieren mit Atherombildung.

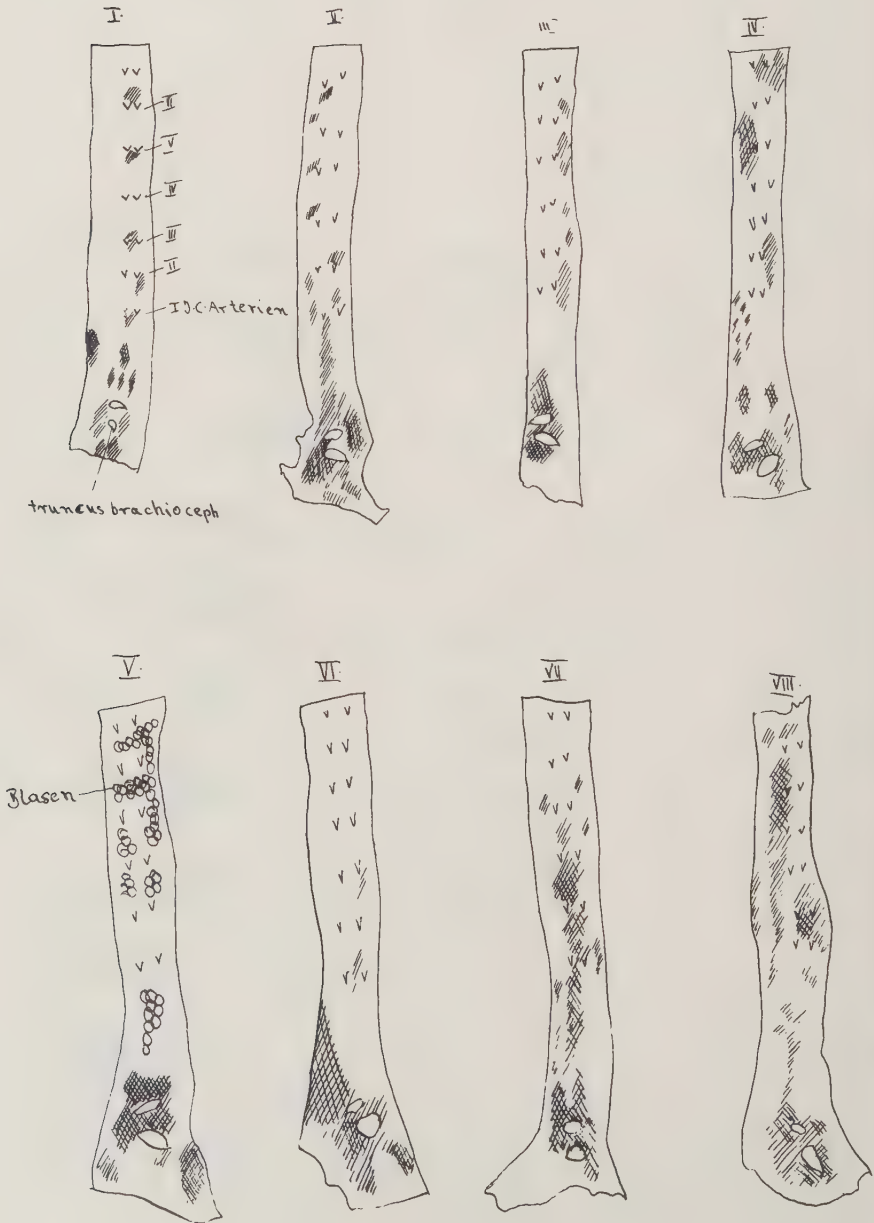


Abb. 1

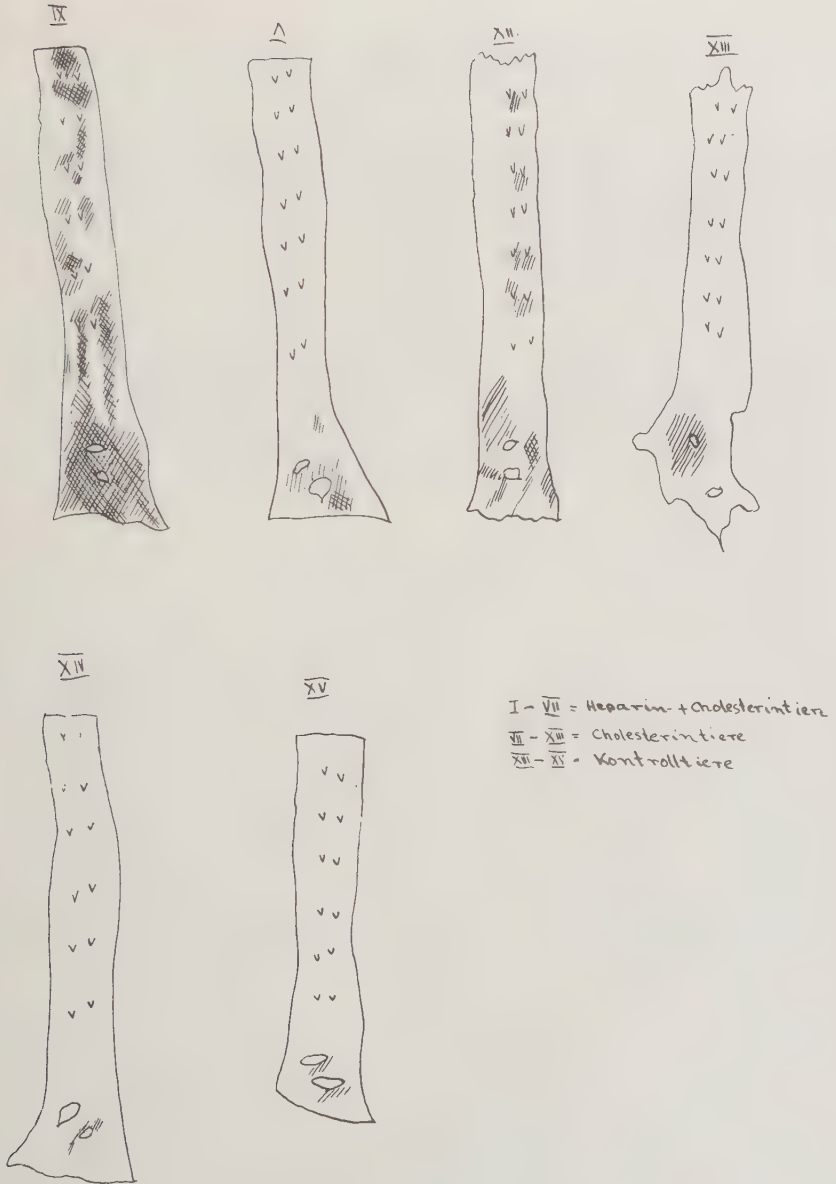


Abb. 2

Diskussion und Zusammenfassung

Die Versuche dieser Arbeit bestätigen die Ergebnisse von WANG (4) und ANITSCHKOW (5), daß Atherome in der Aortenwand durch Fütterung mit Cholesterin allein entstehen können, denn kein Histamin, wie SETÄLÄ (2) und BENACERRAF (3) es angegeben, wurde verwendet. Die Ergebnisse dieser Fütterung zeigen Abbildungen 1 und 2.

Bei den Blutanalysen kamen wir zu folgenden Ergebnissen: Der Quotient Phosphorlipide zu Gesamtcholesterin ist in cholesteringefütterten Tieren kleiner als in normalgefütterten und bestätigt damit die Ergebnisse von WILKENS (13). Zwar sagt WILKENS (13), daß das Gesamtcholesterin zur Berechnung unbrauchbar ist, setzt man aber dafür den Quotienten Phosphorlipide zu freiem Cholesterin ein, so kommt man zu dem gleichen Ergebnis, nämlich einer Erniedrigung dieses Quotienten in den cholesteringefütterten Tieren.

Auch die Beziehungen der einzelnen Lipide zu einander, wie PETERS sie angibt (11), scheinen in unserer Arbeit bestätigt. Bei allen cholesteringefütterten Tieren fand sich ein Quotient Lipidphosphor/Gesamtcholesterin, der über dem normalen lag, zusammen mit einem normalen oder erhöhten Quotienten für freies Cholesterin zu Gesamtcholesterin. Auch die Angaben von BRÜCKEL (1), MAYER (15) und AHRENS (16), daß normal gefütterte Tiere einen Cholesterin-Phosphorlipid-Quotienten kleiner als 1, die cholesteringefütterten aber einen größer als 1 haben, konnten bestätigt werden. Kurve 2 zeigt, daß eine Hypercholesterinämie von einer Zunahme der Phosphorlipide begleitet ist, wie es auch ZÖLLNER (32) und WANG (4) angeben. Der Einfluß der Neutralfette auf die Trübung des Serums war nicht eindeutig (18, 19, 32). Unterschiedliche Stärken der Trübung des Serums wurden ungeachtet der Neutralfettkonzentrationen gefunden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen (Tabelle 1, 2 und 3), daß die Werte für Plasmalipide bei heparinisierten oder nicht heparinisierten cholesteringefütterten Tieren ohne große Unterschiede sind. Beide Gruppen weisen infolge der langen Gabe von Cholesterin einen erheblichen Anstieg der Plasmalipide auf. Das Gesamtcholesterin steigt steil an und bleibt nach 3 - 4 Wochen Cholesterinfütterung auf einem Niveau von 1500 - 2000 mg% Gleichmäßig in beiden Gruppen steigen auch das freie Cholesterin und die Phosphorlipide an. Die Neutralfette zeigten in Anstieg und Abfall keinerlei Übereinstimmung und in keiner der Gruppen eine Beziehung zu einem

der anderen Plasmalipoide. Die heparinisierten und die nichtheparinisierten cholesteringefütterten Tiere absorbierten große Mengen Cholesterin, nach 2 - 3 Wochen wurde die Absorption etwas geringer (Kurve 4).

Der einzige Unterschied im Plasma der heparinisierten und der nicht heparinisierten Tiere zeigt sich in der Trübung. Das Plasma der heparinisierten Tiere war weniger trübe als das der nicht heparinisierten. Mit Ausnahme von Tier Nr. 1, hatten alle heparinisierten Tiere eine Trübung unter 0,77, während die der nicht heparinisierten über 0,77 lag. Der Ablesungswert (oder E-Wert) für das Plasma der Kontrolltiere liegt unter 0,16 (Kurve 1).

Keine großen Unterschiede zeigten die Ergebnisse einer Untersuchung des Cholesteringehaltes der Aortenwand bei heparinisierten oder nicht heparinisierten Tieren (KLUGE, Dissertation in Vorbereitung). KLUGE untersuchte die Aortenwand auf Gehalt an Cholesterin und fand einen mittleren Anstieg auf das Vierfache des Normalwertes. Ein makroskopischer Vergleich der Bilder (Abb. 1 u. 2) zeigt jedoch, daß die nicht heparinisierten Tiere eine größere Neigung haben, Atherome zu bilden, als die heparinisierten. Die Ablagerungen um den Truncus brachiocephalicus und um die Intercostalarterien waren größer. Bemerkenswert ist eine Verringerung der Wandstärke der Aorta bei einem der heparinisierten Tiere (Nr. 5).

Die Erhöhung des Plasmacholesterins zeigt, daß große Mengen durch den Magen-Darm-Kanal des Kaninchens aufgenommen werden. Nach einer sehr hohen anfänglichen Aufnahme rate fällt die Cholesterinaufnahme nach und nach ab, oder steigt auch wieder und fällt dann wieder ab. Hierfür kommen drei Ursachen infrage, entweder der Verdauungstrakt hat Möglichkeiten geschaffen, die Absorption teilweise zu verhindern, oder das Cholesterin wird erst absorbiert, dann aber später doch ausgeschieden, oder aber das Serum ist an Cholesterin so reich, daß kein zusätzliches Cholesterin mehr aufgenommen werden kann. Da aber die Serumcholesterinwerte auf einem hohen Niveau gehalten werden, muß eine gewisse Menge kontinuierlich absorbiert werden, wenn auch nicht so viel wie anfangs. Eine vollkommene Ausscheidung des gesamten gefütterten Cholesterins wurde nirgends beobachtet und damit gezeigt, daß immer eine gewisse Menge aufgenommen wird und also kein Block vorhanden ist, der die Aufnahme insgesamt verhindert.

Einen Beweis für den Einfluß des Plasmacholesterins auf die Plasmatrübung gibt Kurve 3. Sie zeigt, daß bei steigendem Cholesterin auch die Trübung zunimmt.

Normalerweise liegt der Wert für Phosphorlipide höher als der Cholesterinwert. Bei den Cholesterintieren fand sich das Umgekehrte (Tabelle 1, 2 und 3, Kurve 5). Es ist verständlich, daß der Cholesterinwert höher liegt als der für Phosphorlipide, da die Tiere mit der Nahrung große Mengen Cholesterin angeboten bekamen und in der Lage waren, es aufzunehmen. ZÖLLNER sagt, daß durch Gaben von Cholesterin auch eine Zunahme der Phosphorlipide herbeigeführt wird und daß diese Zunahme durch einen Regulationsprozeß des Körpers verursacht wird (32). Die Ergebnisse zeigen, daß die Erhöhung des Cholesterinspiegels sehr groß ist (mindestens um das Zehnfache des Normalwertes) während die Phosphorlipide nur wenig zunehmen. Dies deutet wohl an, daß der Regulationsprozeß nicht in der Lage ist, Schritt zu halten und so viele Phosphorlipide aufzubauen als Cholesterin hereinkommt. Kurve 5 zeigt, wie ein steigender Cholesterinspiegel zu steigenden Phosphorlipidwerten führt.

Die Neutralfette zeigten in Höhe ihrer Spiegel keinen Zusammenhang mit dem Anstieg des Cholesterins oder der Phosphorlipide. Es zeigte sich jedoch, daß bei hohem Cholesterinspiegel die Wahrscheinlichkeit eines negativen Neutralfettwertes (aus Berechnung) größer ist. Man kann wohl sagen, daß die Neutralfette eine eigene Gesetzmäßigkeit haben und weder vom Anstieg der Phosphorlipide noch dem des Cholesterins beeinflusst werden.

Die zusammenfassenden Ergebnisse dieser Arbeit führen zu der Feststellung, daß normalerweise ein bestimmtes Verhältnis der Plasmalipide untereinander vorhanden ist. In den Versuchstieren mit Hyperlipämie und den Atheromen in der Aortenwand waren die Beziehungen der Lipide offensichtlich nicht normal. Heparin-gabe beeinflusst die Lipidkonzentrationen nicht sehr, so daß kein wesentlicher Unterschied zwischen Heparin- und Nichtheparintieren bestand. Es verringerte jedoch die Trübung des Serums (Kurve 1) und reduzierte die Schwere der Ausbildung von Atheromen in der Aortenwand. Vielleicht deutet dies an, daß Heparin einen "Klärfaktor" aktiviert (22) durch den die Lipoproteidlipase große Lipoidpartikel in kleinere aufbricht, so daß das Serum klarer erscheint, und eine feinere Verteilung in der Aortenwand erreicht wird.

Ergänzend möchte ich noch bemerken, daß Tier Nr. 11 in der ersten Woche durch einen Unfall umkam. Die Untersuchungsergebnisse von Tier Nr. 14 konnten nicht genommen werden, denn es war krank und lieferte unsichere Werte.

Bibliographie

1. Brückel, K.W., Berg, D., Zschr. Kreisl. forsch.,
Berger, H.D., Jobst, H., Stuttgart 47, (1958) 923
Kommerell, B., Krebs, M.,
Schettler, G.:
2. Setälä, K.: Naturwissenschaften,
Berlin 8, (1960) 184
3. Benacerraf, B.: Amer. J. Path. 35, (1959) 75
4. Wang, C.I., Schaefer, L.E. J.Mt. Sinai Hosp. N.Y. 21, (1954) 19
u. Adlersberg, D.:
5. Anitschkow, N.: Zbl. allg. Path. 24, (1913) 1
6. Fredrikson, D.S. und Physiol. Rev., Baltimore 38, (1958) 585
Gordon, R.S.:
7. Zöllner, N.: Dtsch. med. Wschr. 83, (1958) 448
8. Jeener, R.: Biochim. biophysica acta, N.Y. 27, (1958) 661
665
9. Friedmann, M., Proc. Soc. Biol. Med.,
Byers, S.O.: N.Y. 98, (1958) 281
10. Zöllner, N.: Thannhausers Lehrbuch des Stoffwechsels
und der Stoffwechselkrankheiten, (Stuttgart
1957) 637
11. Peters, J.P. u. Quantitative Clinical Chemistry I,
Van Slyke, D.D.: (Baltimore 1946) 470
12. Deuel, H.J.: The Lipids II, (New York 1955) 387
13. Wilkenson, C.F., jr.: Ann. Int. Med., Lancaster 37,
(1952) 1162

14. Turner, K.B. und Pratt, V. : Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 71, (1949) 633
15. Mayer, A. und Schäffer, G. : J. physiol. path. gén., Paris 15, (1913) 510, 773, 984
16. Ahrens, E.A. und Kunkel, H. G. : J. Exper. Med. 90, (1949) 409
17. Wang, C.I., Schaefer, L.E. u. Adlersberg, D. : J. Mt. Sinai Hosp., N.Y. 21, (1954) 23
18. Schettler, G. und Jobst, H. : Dtsch. med. Wschr. 80, (1955) 1077
19. Thannhauser, S.J. : Lipidoses, New York 1950
20. Schettler, G. : In "Handbuch der Inneren Medizin" Vol. 7, Part 2, (Berlin 1955) 713
21. Cohen, H. und Tudhope, G.R. : Brit. Med. J., (1956) 1023
22. Korn, E.D. und Quigley, Th.W. : 3. Intern. Kongr. üb. d. Biochemie d. Lipide (Brüssel 1956)
23. Constantinides, P. : Science 117, (1953) 505
24. Meng, H.C. und Hollet, Ch. : 3. Intern. Kongr. üb. d. Biochemie d. Lipide (Brüssel 1956)
25. Pilgeram, L.O. : J. Geront. 13, (1958) 32
26. Zak, B., Dickenham, R.C., White, E. G., Burnett, H. und Cherney, P.J. : Am. J. Clin. Path. 24, (1954) 1307
27. Zak, B., Moss, N., Boyle, A.J., Zlatkis, A. : Anal. Chem. 26, (1954) 776

28. Sperry, W.M.: Lipide Analysis. In: Methods of Biochemical Analysis, Bd. 2, (Interscience Pub., Inc., New York 1955) 83
29. Bartlett, G.R.: J. Biol. Chem., Baltimore 234, (1959) 466
30. Sperry, W.M.: Industrial and Engin. Anal., ed. 14, (1942) 88
31. Rapport, M.M. und Alonzo, N.: J. Biol. Chem., Baltimore 217, (1955) 193
32. Zöllner, N.: Path. biol., Paris 7, (1959) 163
33. Bang, I.: Biochem. Z. 90, (1918) 383
34. Bloor, W.R.: Biochemistry of the Fatty Acids, New York 1943
35. Bloor, W.R. und Knudson, A.: J. Biol. Chem. 27, (1916) 107; 29, (1917) 1
36. Boyd, E.M.: J. Biol. Chem., Baltimore 101, (1933) 323
37. Sperry, W.M.: J. Biol. Chem., Baltimore 114, (1936) 125

Lebenslauf

Am 7. Mai 1933 wurde ich in Honolulu/Hawaii als Sohn des Kaufmanns George Chun und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Lum, geboren.

In Loyola High School, Los Angeles in Kalifornien, absolvierte ich die High School.

Im Jahre 1951 besuchte ich 2 Jahre die Universität von San Francisco.

Im Jahre 1953 besuchte ich 2 Jahre die Universität von Kalifornien in Berkeley.

1955 begann ich mein Medizinstudium in München, das ich 1961 mit dem Staatsexamen abschloß.

